UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 30

FACULTÉ DE MÉDECINE

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MÉDECINE LÉGALE

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ D'OBTENTION DU SPECTRE ET DES CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 29 Juillet 1914

PAR

Henri-Benoît FRYDBERG

Né à Lodz (Pologne Russe), le 5 février 1890

Pour obtenir le Grade de Docteur d'Université

(MENTION MÉDECINE)

Examinateurs de la Thèse

SARDA, Professeur, *Président.*
VIRES, Professeur.
DERRIEN, Agrégé.
EUZIÈRE, Agrégé.

Assesseurs

MONTPELLIER
IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14, Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1914

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ D'OBTENTION DU SPECTRE
ET DES CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 30

FACULTÉ DE MÉDECINE

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MÉDECINE LÉGALE

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ D'OBTENTION DU SPECTRE ET DES CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 29 Juillet 1914

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

PAR

Henri-Benoît FRYDBERG

Né à Lodz (Pologne russe), le 5 février 1890

Pour obtenir le Grade de Docteur d'Université

(MENTION MÉDECINE)

Examinateurs de la Thèse

SARDA, Professeur, *Président.*
VIRES, Professeur.
DERRIEN, Agrégé.
EUZIÈRE, Agrégé.

Assesseurs

MONTPELLIER
IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14, Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1914

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Administration

MM. MAIRET (✲)	DOYEN.
SARDA	ASSESSEUR.
IZARD	SECRÉTAIRE

Professeurs

Clinique chirurgicale	MM. TEDENAT (✲).
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	MAIRET (✲).
Physique médicale	IMBERT.
Botanique et histoire naturelle médicales	GRANEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE (✲).
Clinique ophtalmologique	TRUC (O. ✲).
Chimie médicale	VILLE.
Physiologie	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne	DUCAMP.
Anatomie	GILIS (✲).
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL (✲).
Pathologie et thérapeutique générales	BOSC.
Hygiène	BERTIN-SANS (H.)
Clinique médicale	RAUZIER (✲).
Clinique obstétricale	VALLOIS.
Thérapeutique et matière médicale	VIRES.
Anatomie pathologique	N.....

Professeurs adjoints : MM. DE ROUVILLE, PUECH, MOURET.

Doyen honoraire : M. VIALLETON.

Professeurs honoraires: MM. E. BERTIN-SANS (✲), HAMELIN (✲), GRASSET (O. ✲).

Secrétaire honoraire : M. GOT.

Chargés de Cours complémentaires

Clinique gynécologique	MM. DE ROUVILLE, prof.-adj.
Accouchements	PUECH, profes.-adjoint.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURET, profes.-adj.
Pathologie externe	LAPEYRE, agr. lib. ch. de c.
Clinique des maladies des voies urinaires.	JEANBRAU, ag. lib. ch. de c.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées...	VEDEL, agr. lib. ch. d. c.
Médecine opératoire	SOUBEYRAN, ag. lib. ch. d. c.
Clinique annexe des maladies des vieillards.	EUZIERE, agrégé.
Accouchements	P. DELMAS, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. GALAVIELLE.	MM. CABANNES.	MM. RIMBAUD.
GRYNFELTT.	DERRIEN.	ROGER.
LAGRIFFOUL.	P. DELMAS.	ETIENNE.
LEENHARDT.	MASSABUAU.	LISBONNE.
GAUSSEL.	EUZIERE.	MARQUÈS (ch. d. f.)
RICHE.	J. DELMAS.	

Examinateurs de la thèse :

MM. SARDA, Président.	MM. DERRIEN, Agrégé.
VIRES, Professeur.	EUZIÈRE, Agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MA FIANCÉE

A MES SŒURS

A MON FRÈRE

MEIS ET AMICIS

B. FRYDBERG.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SARDA

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VIRES

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DERRIEN

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGE EUZIÈRE

B. FRYDBERG.

Arrivé aux termes de nos études, nous sommes heureux d'avoir l'occasion d'exprimer nos sentiments de profonde reconnaissance pour le pays où nous avons passé nos meilleures années d'existence et dont les beautés incomparables et la puissante culture intellectuelle ont capté pour toujours notre cœur et notre esprit.

Nous n'oublierons jamais l'accueil bienveillant que nous avons toujours trouvé auprès de nos Maîtres et garderons un heureux souvenir de notre vieille Alma Mater.

Nous tenons particulièrement à exprimer nos vifs remerciements à M. le professeur Sarda, qui nous a inspiré le sujet de notre thèse, pour l'accueil bienveillant qu'il nous a réservé en mettant à notre disposition le riche matériel du laboratoire de médecine légale et en nous aidant de ses précieux conseils.

Nous voulons exprimer à M. le professeur agrégé Derrien notre reconnaissance pour les conseils qu'il nous a toujours prodigués de si bonne grâce au cours de notre

travail et pour la peine qu'il s'est imposée en nous aidant dans la correction de notre thèse.

Nous remercions vivement M. le professeur Vires et M. le professeur agrégé Euzière qui nous ont fait l'honneur de faire partie du jury de notre thèse.

SUR UN NOUVEAU PROCÉDÉ
D'OBTENTION DU SPECTRE
ET DES CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE

INTRODUCTION

L'examen des taches de sang ou plus précisément des taches suspectes est en médecine légale de pratique journalière.

Le médecin expert, questionné sur la nature de ces taches, a à sa disposition un certain nombre de procédés proposées successivement par divers auteurs.

Leur emploi est suivant les cas plus ou moins efficace, c'est-à-dire capable de démontrer la nature de la tache examinée.

La connaissance de ces procédés est réellement utile puisqu'ils peuvent constituer aujourd'hui une gamme des moyens d'importance croissante et contribuer ainsi à une précision plus grande, et permettent aux résultats obtenus de se vérifier réciproquement.

On peut arriver grâce à cette série d'examens successifs à poser un diagnostic précis, basé sur un certain nombre de résultats concordants, qui constituent les uns pour les autres autant de moyens de contrôle.

Il n'est point superflu de recourir dans le cas de moindre doute à une série de recherches en vue de poser ce diagnostic, étant donné la gravité particulière des conséquences d'une réponse erronée. Cette gravité découle des circonstances dans lesquelles on est appelé à faire cet examen.

Il arrive fréquemment, en effet, que les conclusions auxquelles arrivera le médecin expert peuvent avoir une influence décisive sur la marche de l'instruction judiciaire.

Il y aura à distinguer une tache de sang de taches offrant un aspect analogue et constituées par de la rouille, le suc de certains fruits, les excréments de mouches, de puces, etc.

Ces dernières peuvent quelquefois être prises pour des éclaboussures de sang.

On peut classer les différents moyens d'investigation dont on dispose actuellement d'après leur valeur diagnostique en procédés d'orientation et procédés de diagnostic proprement dit.

Les procédés d'orientation sont les réactions colorées, rapides, élégantes et très sensibles. Elles n'ont qu'une valeur négative, c'est-à-dire que l'absence de la réaction colorée indique qu'il ne s'agit pas du sang, mais l'inverse n'est pas vrai.

Pour la réaction de Van Deen, par exemple, le buvard peut donner quelquefois la coloration bleue caractéristique, sans être mouillé avec la solution sanguine.

Cette cause d'erreur mise à part, cette coloration apparaît également dans le cas des liquides organiques, comme le sperme, le mucus nasal ou bronchique.

Les procédés de diagnostic proprement dit sont :

L'examen microscopique permettant de constater la

présence des globules rouges serait une preuve absolue, mais malheureusement les cas sont rares en médecine légale où on a à sa disposition du sang frais.

Avec du sang ancien ou altéré et à plus forte raison avec des taches de sang, la recherche devient beaucoup plus délicate.

L'eau distillée dissout les hématies.

Les liquides dits régénérateurs ne redonnent que très imparfaitement leur forme primitive aux globules desséchés et altérés.

Les hématies se gonflent plutôt, prenant une forme plus ou moins globuleuse.

Donc ce mode d'examen ne permet que rarement de caractériser le sang dans les expertises médico-légales.

L'examen spectroscopique et l'obtention des cristaux caractéristiques constituent les deux méthodes précieuses qui permettent de déceler la présence du sang avec des taches anciennes, altérées ou constituées par du sang oxycarbonisé.

L'examen spectroscopique ou microspectroscopique consiste à rechercher le spectre de l'hémochromogène, le plus caractéristique et le plus sensible des spectres des dérivés de la matière colorante du sang.

L'examen microchimique consiste à rechercher les cristaux d'hématine et les cristaux d'hémochromogène, formés sur une lame porte-objet sous l'influence de réactifs appropriés.

La recherche des cristaux de chlorydrate d'hématine par le procédé classique de Teichmann, ou de iodo-hématine par le procédé de Lecha-Marzo, soit enfin de iodo-bromo et chloro-hématine par le procédé du professeur Sarda sont surtout employés en France et dans les pays latins.

La recherche des cristaux d'hémochromogène et de son spectre jouit d'une grande vogue à l'étranger et surtout en Allemagne où un grand nombre de travaux ont paru sur ce sujet dans ces dernières années.

Des nombreux procédés que ces auteurs ont proposés, les uns visent la recherche des cristaux d'hémochromogène, qu'ils considèrent comme suffisamment nette et sûre pour caractériser la présence du sang, les autres la recherche du spectre d'hémochromogène, le considérant comme plus caractéristique et surtout plus sensible.

Sur les conseils de M. le professeur Sarda nous avons recherché ce que ces procédés étaient capables de donner comparativement au procédé proposé par MM. les professeurs Derrien et Sarda.

Enfin, nous avons entrepris une série d'expériences en vue d'établir une technique rigoureuse de ce procédé, communiqué par MM. les professeurs Sarda et Derrien à la Société chimique de France, le 30 juin 1911.

C'est ce procédé d'obtention et de montage simultanés de préparations durables permettant la caractérisation microspectroscopique des pigments transformables en hémochromogène, qui a été surtout le sujet de nos expériences, dont nous nous proposons de faire l'objet de ce travail.

Voici le plan que nous avons suivi dans l'exposé de notre étude.

Historique

Étude des procédés d'obtention des cristaux d'hémochromogène.

1° Historique.

2° Procédé à la pyridine et sulfure d'ammonium et à la pyridine seule.

a) Matériel et technique à suivre.

b) Expériences.

c) Résultats.

Examen micro-spectroscopique des préparations microscopiques d'hémochromogène.

1° Historique.

2° Expériences.

a) Matériel et technique.

b) Résultats.

Étude du procédé de MM. les professeurs Derrien et Sarda.

1° Communication à la Société chimique de France.

2° Expériences.

3° Technique du procédé.

a) Préparation du réactif.

b) Façon de procéder

pour l'obtention des cristaux d'hémochromogène

pour l'examen microspectroscopique

pour l'obtention des préparations de taches critiques

4° Résultats.

Conclusions

Index Bibliographique

HISTORIQUE

En 1864 Stocks a trouvé qu'il se forme pendant la réduction de l'hématine dans une solution alcaline une substance rouge qui possède un spectre spécial. Il l'appela *hématine réduite*.

F. Hoppe-Seyler continua ses recherches et arriva à la conclusion que cette hématine réduite peut aussi prendre naissance par le dédoublement de l'hémoglobine réduite.

Considérant dès lors le nom d'hématine réduite injustifié, il proposa de l'appeler hémochromogène. Il démontra que l'hémochromogène peut s'obtenir non seulement de l'hématine, mais aussi directement de l'hémoglobine par dédoublement de celle-ci, en présence des acides, des alcalis, de l'alcool et par chauffage d'une solution d'hémoglobine à 100° à l'abri de l'oxygène. Il établit ensuite que dans les solutions alcalines très faibles l'hématine est réduite par le sulfure d'ammonium seulement en présence de l'albumine.

Il trouve ensuite que l'hémochromogène a une grande affinité pour l'oxygène et se combinant avec lui passe facilement aussi bien dans les solutions acides que dans les

solutions alcalines à l'état d'hématine. Lorsque les solutions d'hémoglobine ne contenant pas de méthémoglobine sont décomposées par les acides dilués en l'absence de l'oxygène, il se forme immédiatement de l'hématoporphyrine. Mais lorsqu'il y a des traces seulement d'oxygène ou de méthémoglobine il se forme de l'hématine aussi bien dans les solutions alcalines qu'acides. Mais comme en présence des alcalis il se forme aux dépens de l'albumine des substances réductrices, cette hématine se transforme en hémochromogène. Dans ses travaux ultérieurs, Hoppe-Seyler prouva que c'est l'hémochromogène et non l'hématine qui possède la propriété de se combiner avec l'oxyde de carbone. Cette combinaison présente un spectre analogue au spectre de la carboxyhémoglobine.

A l'appui de cette façon de voir vient le fait que dans la décomposition de la carboxyhémoglobine cristallisée en carboxyhémochromogène et albumine il n'y a aucune modification de la tension de l'oxyde de carbone. Donc l'hémoglobine doit contenir un groupement qui provient de l'albumine de la matière colorante du sang, qui peut s'unir avec l'oxyde de carbone. Ce doit être un groupement atomique qui dans le sang normal peut se combiner d'une part avec deux atomes d'oxygène et d'autre part avec une molécule d'oxyde de carbone. Ces considérations ont amené Hoppe-Seyler à la conclusion que ce groupement atomique constitue la substance fondamentale de la matière colorante du sang, car elle peut être obtenue de toutes les combinaisons de l'hémoglobine.

En 1890, Copeman trouve que les préparations de cristaux d'hémoglobine examinées au bout de quelques années, tout en ne présentant aucune modification de

forme, ont transformé leur spectre en spectre d'hémochromogène.

En 1894, Menzies trouva qu'en chauffant pendant plusieurs jours le sang avec l'iodure de potassium, le chlorure de potassium ou le bromure de potassium, il se forme une substance qui présente au spectroscope dans le vert deux bandes d'absorption analogues. Il a cru devoir admettre que cette substance est un hémochromogène oxydé, étant donné que par l'action de sulfure d'ammonium elle s'est transformée en hémochromogène.

Dans une communication ultérieure, Menzies (1895), rapporte que le sang transformé par l'action des acides dilués en méthémoglobine et ensuite en hématine acide se transforme par l'addition de sulfure d'ammonium en hémochromogène. Lorsqu'on l'agite avec l'air il se transforme en hémoglobine et finalement en oxyhémoglobine. Menzies considère l'hémoglobine comme une combinaison de l'hémochromogène et de l'albumine alcaline, ce qui répond aux idées de Hoppe-Seyler. Quelques années plus tard, en 1899, vient une publication de Harnack sur l'action des acides dilués sur le sang. Il se forme sous leur action de l'acidhémoglobine qui se transforme très rapidement en hématine acide.

E. Ham et Herm. Balean concluent de leurs recherches que l'hématine se forme aux dépens de l'hémoglobine qui perd sa globine et un atome d'oxygène. Ils admettent qu'un atome d'oxygène fait l'union entre le complex ferrugineux et la globine, et qu'il est mis en liberté en même temps que cette dernière. Hüffner trouve que par l'action de l'hydrate d'hydrazine sur une solution alcaline de l'hématine, on provoque la formation d'hémochromogène.

Von Zeyneck, en 1898, après avoir dissous l'hématine

dans un mélange d'alcool et d'ammoniaque dilué, porte cette solution à l'ébullition et ajoute un léger excès d'une solution d'hydrate d'hydrazine à 50 0/0. Il lave la substance obtenue plusieurs fois à l'éther, puis la sèche à 40° et finalement, pour lui enlever toute trace d'eau, il la sèche dans un courant d'hydrogène à 130°.

La substance obtenue se présente sous forme d'une masse de couleur rouge brun peu altérable à l'air.

Une série d'analyses démontra à l'auteur que cette masse contenait non de l'hémochromogène mais une combinaison de l'hémochromogène avec l'ammoniaque.

Il a pu conclure de ces recherches que, pendant la réduction de l'hématine en hémochromogène, les deux molécules d'hématine perdent un atome d'oxygène, et il donne $C_{32}\ H_{32}\ Fe\ Az_4O_4$ comme répondant à la formule de l'hématine et $C_{64}H_{64}Fe_2\ Az_8O_7$ à celle d'hémochromogène.

Si on admet pour l'hématine la formule $C_{34}\ H_{34}Fe\ Az_4\ O_5$, celle de l'hémochomogène sera $C_{68}\ H_{68}\ Fe_2Az_8O_9$.

En 1900, cet auteur confirmait les résultats de ses recherches.

En faisant agir sur l'oxyhémoglobine la pepsine et et l'acide chlorydrique pour lui enlever la globine, il obtenait de l'hématine, laquelle transformée par le procédé sus-décrit en hémochromogène donnait à l'analyse des résultats sensiblement identiques aux précédents.

En 1909, Hasselbach communique qu'il a observé la transformation de l'hématine en hémochromogène sous l'influence des rayons ultra-violets.

Comme cette transformation s'opère plus rapidement dans le vide, il conclut que les rayons ultra-violets agissent comme des réducteurs.

En 1910, Küster a publié un travail dans lequel il

démontre que l'hématine est une combinaison ferrugineuse, qui a peu ou rien de commun avec le complexe ferrique de l'oxyhémoglobine. Il arrive aux conclusions suivantes :

L'hémoglobine est une combinaison de la globine avec l'hémochromogène, tandis que l'oxyhémoglobine est une combinaison de la globine et du peroxyde d'hémochromogène, et la méthémoglobine de la globuline et de l'hématine.

Enfin Röhmann considère l'hémochromogène comme un acide et la globuline comme une base, ce qui donne à l'hémoglobine le caractère d'un sel.

ÉTUDE DES PROCÉDÉS D'OBTENTION DES CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE

De Dominicis signale le premier l'emploi de la pyridine pour l'obtention des cristaux d'hémochromogène.

Donogany donne, en 1891, un mode facile d'obtention des cristaux d'hémochromogène. On dépose sur la lame porte-objet une goutte de la solution sanguine à laquelle on ajoute successivement une goutte de pyridine et une goutte de sulfure d'ammonium. On recouvre la préparation avec une lamelle couvre-objet et on l'examine au microscope.

On obtient par ce procédé des cristaux, même avec des solutions de sang qui datent de plusieurs années.

Cevidalli propose d'ajouter simplement une goutte de pyridine à une goutte de la solution sanguine.

C'est avec ce procédé qu'il obtient plus facilement les cristaux.

Lochte propose de remplacer la pyridine par la pipéridine, ce qui lui fait obtenir des cristaux d'hémochromogène nombreux et disposés en groupements caractéristiques.

Il dissout les taches anciennes dans l'eau ammoniacale, la soude ou la potasse et concentre ensuite la solution obtenue.

Lattes emploie un mélange acide composé de pyridine et de pyrogallol ou d'acide acétique dilué.

Heine emploie un réactif qu'il prépare en mélangeant deux parties de pyridine avec trois parties d'une solution concentrée d'hydrate d'hydrazine. Après dessiccation soigneuse, illute les préparations avec le baume de Canada, pour les rendre durables.

Mita ajoute tout simplement une goutte de pyridine et une goutte d'hydrate d'hydrazine. Il évite par cette substitution le dépôt de soufre qu'on obtient avec le sulfure d'ammonium.

E. Stockis a décrit en 1910 une technique nouvelle du procédé de Donogany. Il soumet les taches extraites par l'ammoniaque à l'action des vapeurs de pyridine et des émanations de sulfure d'ammonium.

G. Puppe et W. Kurbitz donnent la même année un procédé de conservation des préparations.

Ils déposent sur le porte-objet un peu du sang desséché et pulvérisé et ajoutent une goutte de pyridine et une goutte de sulfate d'hydrazine. Ils évaporent prudemment à la flamme sous le couvre-objet et laissent couler du baume du Canada dans la préparation pour la conserver.

Lecha-Marzo ajoute à une goutte de la solution sanguine traitée par la pyridine et le sulfure d'ammonium une goutte d'une solution alcoolique d'iode, qui aurait pour effet de transformer en partie l'hémochromogène en hématine. En réalité c'est un mélange d'hémochromogène et d'iodohématine qu'on obtient.

Le professeur Sarda remplace la solution alcoolique

d'iode de Lecha-Marzo par l'eau iodée, l'eau bromée et l'eau chlorée, ce qui donne également un mélange de cristaux d'hémochromogène et d'iodohématine, bromohématine ou chlorohématine.

L. Cuello ajoute une goutte de la solution aqueuse iodo-iodurée au lieu de l'eau iodée pour obtenir ce mélange de cristaux.

Ugo Rossi recommande de remplacer les solutions iodées, bromées ou chlorées par une solution de chlorate de potasse à 3 p. 100. Avec cette substitution il obtient des résultats excellents.

Procédé à la pyridine et sulfure d'ammonium et à la pyridine seule

Matériel et technique a suivre.

Il est très rare en médecine légale d'avoir affaire à du sang frais.

Ce sont généralement des taches plus ou moins anciennes qu'on présente à l'expert.

Ces taches se trouvent à la surface des différents objets et proviennent ordinairement des éclaboussures ou des empreintes.

Si la tache forme une croûtelle plus ou moins épaisse on tâche de l'enlever soit en entier, soit en grattant sa surface avec la pointe du scalpel lorsqu'elle est très mince ou trop adhérente.

Si la tache, au lieu de former une croûtelle, imbibe le bois, le mur, les vêtements ou les draps, ce qui est

très fréquent, on découpe un petit fragment d'objet ou de tissu maculé.

Ce fragment est mis en macération dans l'eau distillée, dans un petit verre à pied du laboratoire, par exemple.

Il faut mettre la quantité minima d'eau nécessaire pour imprégner le fragment prélevé, afin d'obtenir un liquide franchement teinté.

Avec des taches datant de 6 ans et même davantage, une macération d'une demi-heure à une heure suffit généralement pour colorer le liquide.

Dans le cas de taches très anciennes ou de taches que le professeur Florence appelle « critiques », c'est-à-dire celles qui ne peuvent être déterminées par les procédés classiques, en raison soit de leur faiblesse, soit de leur altération ou de toute autre cause, la macération dans l'eau est insuffisante. La dissolution se fait mieux avec de la soude ou potasse à 20 p. 100, soit avec la lessive au même titre, soit mieux encore avec la liqueur de Virhow (solution de potasse à 30 p. 100). On peut employer dans le même but l'eau ammoniacale. Si la tache de sang est sur une arme ou un objet en fer, elle est fréquemment mêlée de rouille. On gratte alors la tache avec la rouille et on la dissout comme précédemment.

Enfin, si on demande à l'expert de caractériser une tache, tout en la laissant intacte, sur un objet, le professeur Florence indique le procédé suivant : On prend une empreinte de Taylor, c'est-à-dire on applique à la surface de la tache un morceau de papier blanc à filtrer mouillé sans excès. Lorsque le papier porte nettement l'empreinte de la tache, on la découpe et on l'examine. Dans le cas où la tache est sur une étoffe et qu'on de-

mande à la laisser en place, on enlève un fil de cette tache avec la pointe d'un fin scalpel.

Une goutte prise avec une baguette en verre propre est déposée sur une lame porte-objet préalablement frottée avec un linge fin.

Pour la sécher, on dépose la lame sur une plaque métallique chauffante. On chauffe à une température d'environ 60-70 degrés.

On apprécie approximativement, en approchant le doigt, que la température n'est pas trop élevée.

Lorsque la goutte ainsi doucement séchée a pris la consistance sirupeuse, on la retire de la plaque chauffante et on y ajoute d'abord une goutte de pyridine et ensuite une goutte de sulfure d'ammonium.

Il faut que ces deux réactifs soient frais.

L'altération de la pyridine se traduit par un changement de consistance et de couleur ; elle devient plus épaisse et sa couleur se fonce, devenant brunâtre. Son odeur devient moins pénétrante et forte.

L'altération du sulfure d'ammonium se traduit par un dépôt blanc-jaunâtre au fond du flacon, tandis que le liquide perd sa coloration ambrée et devient incolore.

A l'état frais, la pyridine se présente sous forme d'un liquide incolore, léger, mobile, doué d'une forte odeur pénétrante et désagréable.

Elle se conserve bien dans des flacons en verre foncé.

Le sulfure d'ammonium frais est un liquide jaune clair, doué d'une forte odeur d'hydrogène sulfuré.

La goutte claire de pyridine se trouble par addition du sulfure d'ammonium et voile la goutte séchée de

la solution sanguine, puis peu à peu le mélange se colore en rose.

On remet de nouveau la lame porte-objet sur la plaque chauffante et on la sèche aussi doucement que précédemment.

Dès que la goutte du mélange a perdu l'aspect humide de sa surface, on la retire pour éviter les cassures des bords de la préparation, indice d'une dessiccation poussée trop loin, on recouvre la préparation d'une lamelle qui adhère bien lorsque le mélange n'a pas été trop desséché et on l'examine au microscope avec un objectif Leitz n° 7 et un oculaire n° 4, ce qui donne un grossissement de 600 diamètres.

La préparation doit être d'autant mieux éclairée que la goutte à examiner apparaît plus foncée.

Lorsqu'elle est pâle, il vaut généralement mieux rétrécir le diaphragme, les contours des cristaux apparaissant alors plus nettement.

Ordinairement, on observe les cristaux immédiatement ou au bout de quelques minutes. Mais, pour être sûr que la préparation n'en contient pas, il faut attendre une demi-heure au moins, car souvent les cristaux n'apparaissent que tardivement.

Il faut les chercher vers la périphérie de la préparation, constituée généralement par une bande plus foncée qui traduit la concentration de la solution sanguine.

Avec ce grossissement de 600 diamètres, les cristaux apparaissent d'une longueur de 2 à 4 millimètres, ayant une forme de bâtonnets trapus, quelquefois légèrement épaissis sur leurs extrémités, mais le plus souvent droits et uniformes.

Il sont de couleur rouge-noirâtre et souvent presque noirs.

On les voit soit disséminés, soit groupés en x, y, L, T, ou en amas. Les formes longues et fines se disposent souvent en étoiles, en croix ou en pinceau.

Ordinairement, à côté de ces formes caractéristiques on observe des formes imparfaites en petits tronçons carrés à bouts plus ou moins arrondis.

Le plus souvent la préparation est par place littéralement bourrée de ces petites boules.

Plus rarement, sans que la moindre modification de technique intervienne et avec la même macération, donc en opérant dans des conditions sensiblement identiques, on obtient des préparations remplies de cristaux de forme parfaitement caractéristique.

Expériences.

C'est en suivant rigoureusement la technique indiquée que nous avons obtenu le plus facilement des cristaux caractéristiques.

Sur les 38 préparations que nous avons faites, 8 seulement présentaient des cristaux en grand nombre et de forme parfaitement régulière.

Les 30 autres montrent de rares cristaux plus ou moins déformés et très petits, ce qui rend leur recherche fatigante et laisse nécessairement place au doute, ou ne présentent aucune trace de cristaux.

Nous avons donc obtenu par le procédé classique à la pyridine et sulfure d'ammonium, en suivant rigoureusement une technique minutieuse, environ 20 p. 100 des résultats nettement positifs.

Nous n'avons pu trouver dans les nombreux auteurs consultés à ce sujet de données statistiques précises.

Dilling exprime nettement son avis sur la valeur de cette méthode d'obtention des cristaux d'hémochromogène en disant « qu'on ne peut pas se fier à cette méthode ».

Il considère qu'elle a le seul avantage de former les cristaux immédiatement, mais en revanche ces cristaux sont généralement petits, de forme irrégulière et peu durables.

Tandis que avec la pyridine ou la pipéridine seule il obtient des cristaux presque à coup sûr, car le chiffre moyen des préparations réussies qu'il donne est de 90 p. 100.

Pour nous convaincre de la réalité de ces chiffres, nous avons fait de nombreuses préparations avec la pyridine seule.

Nous avons retiré de nos essais cette conviction que les résultats qu'on obtient en n'ajoutant qu'une goutte de pyridine à notre solution sanguine, sont incontestablement supérieurs à ceux de la méthode précédente.

Nous avons réussi à obtenir des cristaux caractéristiques dans la proportion de près de 60 p. 100 en opérant avec des macérations de taches récentes et anciennes datant même de plusieurs années.

Les formes de ces cristaux ont été plus stables, plus régulières et leur conservation beaucoup plus prolongée.

Résultats.

Avec le procédé à la pyridine et sulfure d'ammonium nous avons obtenu des cristaux d'hémochromogène dans la proportion de 20 p. 100 environ.

Nous n'avions pu les conserver plus de dix jours intacts ; ils perdaient peu à peu leur contour net, se déformaient et se fragmentaient en boules.

Les deux gros inconvénients de la méthode sont donc: la faible proportion des préparations réussies et le peu de durée des cristaux.

Les petits inconvénients de la méthode sont : la nécessité d'employer successivement deux réactifs, l'odeur extrêmement désagréable du sulfure d'ammonium qui s'ajoute à celle déjà bien gênante de la pyridine, le dépôt de soufre, qui voile les détails de la préparation.

Avec la pyridine seule nous avons obtenu des cristaux d'hémochromogène dans la proportion très respectable de 60 p. 100 et nous avons réussi à les conserver cinq semaines déjà sans altération notable.

Les avantages secondaires de ce procédé sont : ne nécessiter que l'emploi d'un seul réactif, éviter l'odeur de sulfure d'ammonium et le dépôt gênant du soufre.

EXAMEN SPECTROSCOPIQUE DES PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES D'HÉMOCHROMOGÈNE

Historique

En 1891, Donogany proposa la recherche du spectre d'hémochromogène pour diagnostiquer la présence du sang.

E. Kalmus examine au microspectroscope les préparations des cristaux d'hémochromogène obtenus par le procédé à la pyridine et le sulfure d'ammonium, après les avoir scellées au baume du Canada pour les conserver.

Mita préfère employer l'hydrate d'hydrazine au lieu de sulfure d'ammonium, car il évite ainsi le dépôt de soufre et obtient un spectre plus net.

Dilling étudie le spectre que présente l'hémochromogène dans le violet. On y observe un spectrogramme caratéristique permettant de conclure, même dans les cas de solutions sanguines très diluées.

Pour cet examen il préconise l'emploi de la pyridine ou de pipéridine seule.

H. Citron extrait la tache suspecte par la pyridine. Pour augmenter la sensibilité de la démonstration spectroscopique, il a construit un petit dispositif spécial. C'est un petit vase en verre, qu'on remplit de la solution sanguine et glisse devant la fente du collimateur du prisme dans une petite fente située entre deux rails.

Une très petite quantité de sang en solution très étendue suffit alors pour obtenir le spectre caractéristique.

O. Leers extrait les taches rouillées de sang sur des lames par la potasse caustique (procédé déjà indiqué par Ibsen). Il se sert du petit appareil de Citron lorsque les solutions sont très peu concentrées.

E. Stockis, après avoir extrait les taches de sang par l'ammoniaque, soumet la solution aux vapeurs de pyridine et aux émanations de sulfure d'ammonium et examine les préparations ainsi obtenues au spectroscope. Il considère ce mode d'examen comme très sensible.

G. Puppe et Kurbitz préconisent l'examen spectroscopique des préparations à la pyridine et au sulfate d'hydrazine. Ils obtiennent ainsi le spectre caractéristique d'hémochromogène dans les cas où la recherche des cristaux a échoué.

Methling estime que les cristaux d'hémochrogène ne s'obtiennent que rarement avec les procédés usuels et ne sont point caractéristiques, tandis qu'il est toujours possible avec des solutions même très étendues d'observer le spectre d'hémochromogène dans le violet, qui se présente sous forme d'une large bande typique.

O. Leers a également étudié le spectre avec des préparations de cristaux de Teichmann réduits par l'hydrate d'hydrazine.

Ernest Ziemke (1910) étudie soigneusement les

applications à l'examen médico-légal du sang de la spectroscopie ultra-violette. La preuve durable de cet examen sont les photographies du spectre obtenu et d'un spectre témoin pour la détermination exacte et la comparaison des raies.

Il détermine les limites de dilution des solutions à examiner. Il la fixe pour la carboxyhémoglobine à 1 pour 20.000, pour l'oxyhémoglobine et l'hémoglobine à 1 pour 12.000 et pour la méthémoglobine et l'hématoporphyrine à 1 pour 10.000. Les solutions sanguines apparaissent avec ces dilutions incolores ou presque.

D. Mirto rapporte que les solutions de sang diluées au point de ne plus donner le spectre de l'hémoglobine, étant traitées par un excès d'une solution de phénilhydrazine dans l'alcool à 25 p. 100, donnent toujours facilement et rapidement le spectre d'hémochromogène.

Ce spectre est identique même dans l'ultra-violet à celui qu'on obtient avec la soude caustique à 10 p. 100 et le sulfure d'ammonium.

Avec la phénilhydrazine on n'obtient que très difficilement les cristaux d'hémochromogène.

Enfin, dernièrement Rost, Franz et Heise donnent une intéressante étude sur la technique des photographies des spectres du sang.

Expériences

Nous avons étudié de tous ces procédés ceux qui, étant les plus simples, nous ont paru être les plus employés dans la pratique médico-légale.

C'est l'étude spectroscopique des préparations d'hémochromogène par la méthode à la pyridine et sulfure d'ammonium, et à la pyridine seule, décrites plus haut à propos d'examen microchimique.

Les préparations qui ne présentent point de cristaux d'hémochromogène peuvent servir à cet examen au même titre que ceux qui en présentent. Le matériel nécessaire pour cet examen est constitué par un microscope et un microspectroscope de Florence-Nachet ou de Leitz.

Le microscope dont nous nous sommes servi était un grand microscope de Leitz, mais tout autre microscope de construction récente peut servir aussi bien.

Matériel et technique.

On choisira l'objectif n° 7 si on veut examiner le spectre des détails de la préparation en cas qu'elle contienne de petits cristaux peu caractéristiques.

Dans tous les autres cas, on peut choisir un objectif plus faible, en ayant soin toutefois qu'il pénètre le moins possible des rayons non émis par le sang.

Le microspectroscope de Leitz, par suite de son prix élevé (il coûte 206 fr.), n'est pas d'un usage courant. Il est d'ailleurs assez difficile à manier, étant d'un réglage minutieux et assez compliqué.

Le spectroscope Florence-Nachet est un instrument abordable comme prix et remplit parfaitement, par son extrême sensibilité et son maniement facile, le but désiré.

Il s'adapte à tout microscope et donne une sécurité absolue, grâce à son système de comparaison.

Le professeur Florence appelle cet examen « la spectroscopie du sang à l'état solide ».

Parallèlement on fait une autre préparation avec du sang dans des conditions exactement les mêmes que pour la première.

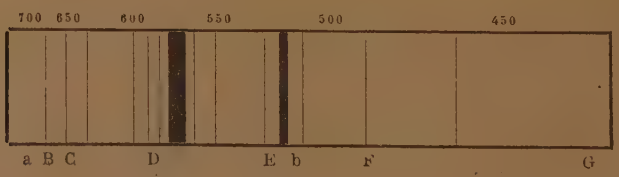
Avant d'examiner la préparation, on procède à la mise au point.

Pour cela, on cherche, en tournant la vis de mise au point, à voir apparaître les raies de Frauenhoffer qui se présentent sous forme de quelques raies noires très fines. Pendant cette petite opération, l'appareil doit être dirigé vers un point bien éclairé du ciel.

On éclaire ensuite le spectre de comparaison avec le petit miroir d'éclairage latéral.

Seulement alors on glisse le tube du microspectroscope dans le microscope à la place de l'oculaire.

On dispose la préparation de la tache suspecte sur la platine du microscope, on met la préparation type (faite avec du sang) dans la glissière qui l'amène devant la petite ouverture du prisme de comparaison. En observant, on voit immédiatement, soit au bout d'une demi-heure environ (temps nécessaire pour réduire l'oxyhémoglobine), les bandes caractéristiques d'absorption de l'hémochromogène : une à droite de D et l'autre en E et b.



Les bandes d'absorption de l'hémochromogène

Si la tache suspecte est réellement formée de sang, les deux spectres sont identiques, c'est-à-dire que les bandes de l'un se continuent exactement avec celles de l'autre, ont la même largeur, en un mot se confondent en deux bandes qui paraissent uniques. Avec ce procédé de comparaison aucune erreur ne doit se produire.

Si la préparation contient des cristaux d'hémochromogène ou si elle forme une tache discontinue, on observe des traits noirs perpendiculaires aux bandes d'absorption.

En enlevant le microspectroscope pour remettre de nouveau l'oculaire, on peut facilement se convaincre qu'on avait des cristaux dans le champ d'observation.

Ces traits disparaissent et reparaissent successivement lorsqu'en observant le spectre on déplace en même temps la préparation sous l'objectif, et que celle-ci ne présente des cristaux que par places.

Résultats.

Les résultats de cet examen sont très satisfaisants, car même en examinant les préparations qui n'ont pas donné de cristaux on observe généralement assez distinctement les bandes d'absorption, et surtout la première bande dans le jaune-vert. La seconde qu'on observe dans le vert entre E et b apparaît souvent peu foncée et floue.

Ce sont surtout les préparations faites avec la pyridine et le sulfure d'ammonium, qui par le dépôt de soufre qu'ils présentent nous ont donné les résultats les moins satisfaisants. Celles faites avec la pyridine seule présentaient un spectre plus net.

L'examen microspectroscopique des préparations d'hémochromogène obtenues par les procédés classiques nous apparaît comme un moyen de diagnostic sensiblement supérieur à la recherche cristallographique au moyen de ces mêmes procédés.

Cet examen devrait constituer un complément nécessaire de l'examen microchimique, étant donné qu'on n'obtient pas toujours par ces procédés classiques des cristaux d'hémochromogène, et que les cas positifs peuvent laisser encore place au doute, la forme des cristaux étant peu caractéristique et souvent imparfaite.

En résumé, l'examen microspectroscopique de ces préparations nous a donné presque toujours un spectre suffisamment net pour pouvoir conclure. Il constitue donc un moyen précieux à la disposition du médecin expert, qui se recommande surtout par sa simplicité et sa sûreté.

ÉTUDE DU PROCÉDÉ DE MM. DERRIEN ET SARDA

Le 5 septembre 1911 a paru dans le Bulletin de la Société chimique de France, dans le compte rendu de la séance de la section de Montpellier, du 30 juin 1911, la communication suivante :

MM. Derrien et Sarda exposent un procédé d'obtention et de montage simultanés de préparations durables permettant la caractérisation microspectrocopique des pigments transformables en hémochromogène, et quelques applications de ce procédé à la médecine légale et à la biochimie comparée.

Ce procédé est fondé sur l'emploi du baume du Canada dissous dans la pyridine (baume, 10 gr. ; pyridine, 20 gr.).

Le fragment de tissu ou l'extrait pigmentifère est desséché sur une lame porte-objet, on y dépose une goutte ou deux de baume du Canada à la pyridine et on place le couvre-objet. L'excès de pyridine est chassé en promenant la lame au-dessus d'une petite flamme. Les auteurs présentent des préparations ainsi obtenues, qui datent de décembre 1910, et qui donnent très nettement

au microspectroscope le spectre de l'hémochromogène. Ce procédé convient particulièrement dans le cas de taches critiques (professeur Florence), et permet d'obtenir des pièces à conviction durables avec un seul fil d'étoffe tachée. Il permet de caractériser aisément les pigments, transformables en hémochromogène, localisés d'une façon très particulière chez les invertébrés (muscle pharyngien des Murex et des Gastéropodes voisins, ganglions nerveux des Aphroditiens, etc.).

Dans le cas de sang frais, il permet d'obtenir en outre de jolis cristaux durables d'hémochromogène-pyridine que l'on peut observer à un très faible grossissement.

Expériences

Sur les conseils de M. le professeur Sarda, nous avons entrepris une série de recherches ayant pour but l'étude de ce procédé au point de vue cristallographique et spectroscopique.

M. le professeur Derrien nous a indiqué ce qu'il y avait surtout d'intéressant dans cette étude et nous a conseillé d'étudier en détail la technique du procédé.

Nous avons fait une première série de recherches en vue d'obtention de cristaux d'hémochromogène et, ayant obtenu des résultats inespérés dès le début, nous nous sommes attaché à bien étudier cette question.

Avec les nombreuses préparations de cristaux d'hémochromogène que nous avons obtenus, et avec celles où les cristaux manquaient, nous fîmes l'étude microspectroscopique du procédé.

Enfin, nous avons fait une série de préparations des taches critiques avec des fils retirés des anciennes taches, des fragments de croûtelles desséchées et avec du sang rouillé.

Ces préparations ont été étudiées au point de vue du spectre surtout.

Nous avons fait parallèlement à nos préparations de taches critiques, et exactement dans les mêmes conditions, quelques préparations par le procédé indiqué par le professeur Florence.

Le fragment imbibé de la liqueur de Virhow (solution de potasse au tiers) est recouvert d'une lamelle et la préparation rapidement lutée.

Les résultats que nous avons obtenus ont été de beaucoup inférieurs à ceux de la méthode précédente.

Pour l'obtention des cristaux d'hémochromogène nous avons employé successivement des macérations dans l'eau distillée de taches de sang d'ancienneté croissante.

Nous avons fait des préparations par série pour pouvoir juger les résultats comparativement.

Elles sont réparties de la façon suivante:

24 préparations avec des macérations de dix minutes de morceaux de compresses tachées de sang cinq à six semaines auparavant.

11 préparations avec des macérations de demi-heure de taches sur linge datant de 1913.

12 préparations avec des macérations d'une heure de taches datant de 1910.

12 avec des taches de 1908.

19 avec des taches de 1907.

8 avec des taches de 1905.

8 avec des taches de 1904.

Nous nous sommes attaché, au cours de nos recherches, avec un soin particulier, à établir une technique rigoureuse du procédé.

Le réactif est constitué par une dissolution de baume du Canada dans la pyridine. Nous avons cherché les proportions respectives de baume du Canada et de pyridine qui permettront d'obtenir les meilleurs résultats.

Dans ce but nous nous sommes servi parallèlement dans toutes nos recherches de trois réactifs : un avec une partie de baume du Canada pour une partie de pyridine, l'autre avec une partie de baume pour deux parties de pyridine, et le troisième avec une partie de baume pour trois parties de pyridine.

Technique du procédé

Préparation du réactif.

Pour préparer le réactif il faut avoir du baume du Canada résine (et non du baume du Canada au xylol employé dans les laboratoires) et de la pyridine.

La pyridine doit être fraîche ; nous avons déjà indiqué comment on peut reconnaître son altération.

Le baume du Canada se présente sous forme de petits fragments d'une résine de couleur ambrée, flexibles à l'état frais, cassants lorsqu'ils sont desséchés.

On choisit de préférence les plus gros morceaux et non desséchés. On pèse sur une balance un gramme de ces morceaux choisis, on les met dans un tube en verre

et, l'équilibre une fois établi, on ajoute le poids d'un gramme qu'on contre-balance en ajoutant, goutte par goutte, la pyridine jusqu'à établir de nouveau l'équilibre.

On laisse le baume du Canada se dissoudre complètement, ce qui demande généralement quelques heures ; mais, déjà au bout d'une demi-heure, la dissolution a pris une certaine consistance, ce qui est suffisant pour qu'on puisse l'employer avec succès.

Ce réactif qui est d'une belle couleur ambrée commence à brunir au bout de 2 ou 3 jours. Il vaut mieux le préparer en petite quantité pour l'utiliser le jour même ; en tout cas il ne faut le conserver plus de 5 à 6 jours, car les préparations réussissent moins bien.

Façon de procéder.

Obtention des cristaux d'hémochromogène. — Une fois le réactif prêt, on évapore doucement sur la plaque chauffante la solution sanguine déposée sur une lame porte-objet. Il est commode de déposer quatre petites gouttes une à côté de l'autre, on obtiendra ainsi quatre petites préparations séparées sous la même lamelle. Avec une baguette en verre on prend une goutte de réactif et on le dépose dans l'espace libre entre les quatre gouttelettes séchées et on recouvre avec une lamelle couvre-objet qui étale uniformément le réactif et le fait déborder légèrement la lamelle. On laisse sécher la préparation sur la plaque chauffante aussi doucement que précédemment. Au bout de quelques minutes la lamelle colle suffisamment pour ne pas glisser lorsqu'on la dépose sur le plan incliné de la platine du microscope.

Ce temps est également suffisant pour la formation des nombreux cristaux d'hémochromogène.

Un objectif n° 7 et un oculaire n° 4 ne sont guère nécessaires que si l'on a affaire à du sang très ancien, car avec les solutions de taches peu anciennes les cristaux sont tellement gros qu'on les voit bien même avec un objectif n° 4 et un oculaire n° 3.

On observe généralement les cristaux vers la périphérie où la solution se concentre, mais avec les macérations de taches anciennes on les observe aussi bien vers le milieu de la préparation.

Avec un éclairage insuffisant les gros cristaux apparaissent encore assez nettement, tandis que les petits cristaux des taches anciennes apparaissent alors par réfringence sur un fond plus foncé.

L'examen microspectroscopique se fait ici dans des conditions exactement identiques à celles que nous avons déjà indiquées à propos des anciens procédés. Les préparations qui présentent des cristaux d'hémochromogène donnent les mêmes raies perpendiculaires aux bandes d'absorption lorsqu'ils se trouvent dans le champ de l'objectif, mais tout apparaît beaucoup plus nettement.

Les préparations qui ne présentent pas de cristaux donnent également un spectre net.

Les préparations de taches critiques s'obtiennent d'une façon très simple. On recueille la croûtelle ou le fil suspect comme il a été dit à propos des procédés du professeur Florence.

Nous nous sommes dispensé de traiter le fragment suspect par la soude, la potasse ou l'eau ammoniacale et même de faire une macération dans l'eau distillée.

Une goutte de réactif est tout simplement déposée sur le fragment sec, soit quelques petites gouttelettes autour de lui, ce qui évitera son déplacement.

Une lamelle étale bien le réactif, et le fait légèrement déborder sur ses faces et ses angles, et la préparation est prête.

Pour l'examiner, il faut avoir soin qu'elle soit bien éclairée et qu'il ne pénètre dans l'appareil que le moins possible de rayons non émis par le sang.

On arrive à ce résultat en choisissant convenablement l'objectif : le champ de celui-ci doit embrasser toute la surface couverte par le fragment ou la plus grande partie possible.

Si le petit fragment du fil ou les grains minuscules de la croûtelle grattée ne couvrent qu'une partie du champ de l'objectif, on observe un spectre incomplet, c'est-à-dire que les bandes sont interrompues et constituées par des points séparés par des espaces clairs. Mais ici encore chaque point de la bande incomplète correspond exactement aux bandes du prisme de comparaison et a la même largeur. Si on déplace légèrement la préparation, ces fractions de bandes apparaissent et disparaissent ; lorsqu'elles sont visibles, la substitution de l'oculaire au microspectroscope permet de constater que les grains ou le fragment examinés sont dans le champ.

Résultats

Sur les 24 préparations de la première série, toutes ont présenté une foule de très gros cristaux, de formes bizar-

res, les uns ressemblant aux cellules de névroglie avec des filaments nombreux très fins et enchevêtrés, les autres en forme d'étoiles à branches fines ou en forme de tours gothiques, mais quelquefois en forme d'aiguilles. La couleur rouge ou brun-rougeâtre de ces cristaux est toujours la même, elle ajoute un élément caractéristique à leur recherche.

Sur les 11 préparations de la seconde série, 9 ont présenté de gros cristaux en nombre assez restreint. Ils ont la forme de bûches isolées ou entrecroisées entre elles de diverses façons ou d'aiguilles. Leur couleur est la même que dans la série précédente.

Sur les 12 préparations de la troisième série, 8 ont présenté des cristaux en forme de petites plaques carrées, à contours tellement réguliers que nous n'avons réussi qu'imparfaitement à reproduire leur forme dans la planche IV. A côté de ces plaquettes on retrouve des bâtons à bouts carrés et disposés isolément en nombre assez considérable et des aiguilles. Leur couleur est rose très pâle. Avec un éclairage faible ils apparaissent réfringents sur un fond sombre.

Sur 12 de la quatrième série, 10 nous ont donné des cristaux plus rares que les préparations précédentes. Ils sont en forme d'aiguilles ou de losanges allongés et fins.

Leur couleur est à peine rosée.

Sur les 19 de la vingtième série, 16 ont présenté des cristaux en grand nombre de même forme que les précédents.

Dans la sixième série, sur 8 préparations, 6 ont été positives, et dans la septième également 6 sur 8.

Il sont toujours en forme d'aiguilles ou de fins losanges et leur contour apparaît en gris si la préparation est

bien éclairée et par réfringence avec un éclairage insuffisant.

Nous avons donc obtenu la proportion suivante des préparations de cristaux d'hémochromogène réussies :

Avec les taches vieilles	de 5	semaines	100 p. 100
—	de 1	an	80 p. 100
—	de 3	ans	65 p. 100
—	de 5	ans	80 p. 100
—	de 6	ans	85 p. 100
—	de 9	ans	75 p. 100
—	de 10	ans	75 p. 100

Les résultats numériques sont donc supérieurs à ceux obtenus avec les procédés anciens. Ils présentent en outre des avantages réels.

Morphologiquement les cristaux obtenus avec du sang peu ancien sont infiniment plus gros, et de forme caractéristique, comme le montrent les planches I, II et III ; leur couleur brun-rougeâtre est également caractéristique, et ils se présentent toujours en nombre considérable.

Ceux qu'on obtient avec des taches anciennes datant de dix ans même sont toujours assez nombreux, leur forme toujours la même suffisamment caractéristique pour poser le diagnostic.

Dans la planche V nous avons reproduit l'aspect du champ microscopique d'une préparation faite avec la macération de taches datant de 1907.

La durée de ces cristaux devrait *a priori* être supérieure à celle des préparations de cristaux d'hémochromogène obtenus par les anciens procédés, car le montage et la préparation se font simultanément, et la prépara-

tion est scellée au moment même de la formation des cristaux.

Les cristaux que nous avons obtenus avec du sang datant de cinq semaines ont un peu pâli dans l'espace des premiers cinq ou six jours, et quelques-uns ont disparu, mais depuis, deux semaines se sont écoulées sans qu'aucun changement survienne.

Nous avons fait les dessins de nos préparations pour les planches, environ deux semaines après les avoir obtenus.

Quant aux cristaux des préparations faites avec du sang ancien datant de neuf ans, ils n'ont subi aucun changement jusqu'à aujourd'hui.

J'ai examiné en outre les préparations obtenues par M. Derrien en décembre 1910 avec du sang frais et présentant encore inaltérés les cristaux d'hémochromogène.

L'examen microspectroscopique nous a donné des résultats excellents. Toutes les préparations présentant des cristaux et toutes celles qui n'en présentaient pas nous ont donné le spectre caractéristique de l'hémochromogène.

L'examen microspectroscopique a toujours été positif, il est donc supérieur aux procédés d'examen microchimiques malgré les résultats remarquables de cristallisation que nous avons obtenus.

Les préparations de taches critiques avec des taches de sang anciennes, datant de 9 ans, nous ont toujours donné les bandes d'absorption typiques.

La première, située dans le jaune-vert immédiatement à droite de D, apparaît toujours bien nette ; l'autre, située entre E et E, l'est bien moins, car on voit ses limites assez mal quelquefois.

Avec le spectre de comparaison le doute ne persiste plus.

En déplaçant la préparation légèrement pendant qu'on observe, on tombe toujours sur un point où le spectre apparaît bien nettement.

Les taches critiques préparées par le procédé au baume du Canada dissous dans la pyridine donnent donc également des résultats excellents à l'examen microspectroscopique. Il présente en outre l'avantage de ne nécessiter aucun dissolvant spécial et de donner des préparations de taches critiques durables avec lesquelles on peut avec plus de sécurité rechercher le spectre de l'hémochromogène.

CONCLUSIONS

Après cet exposé des résultats de nos expériences nous nous croyons autorisé à exprimer les conclusions suivantes :

I. — Le procédé de MM. Derrien et Sarda constitue une méthode précieuse pour l'examen des taches de sang.

II. — Il s'applique à l'examen microchimique dans la même mesure qu'à l'examen microspectroscopique et à l'examen des taches critiques.

III. — Il présente l'avantage d'être un procédé de préparation et de montage simultané.

IV. — Il donne des préparations durables d'hémochromogène.

V. — Il a sur les anciens procédés microchimiques l'avantage de donner des cristaux en grand nombre, de couleur toujours identique et caractérisés morphologi-

quement par quelques types suffisamment nets pour être facilement reconnus.

VI. — Il a sur les anciens procédés d'examen micro-spectroscopique l'avantage de donner facilement avec des taches anciennes un spectre toujours suffisamment net, qui apparaît rapidement et persiste pendant des années.

VII. — Son application aux taches critiques présente l'avantage d'être d'une grande simplicité et ne nécessite aucun dissolvant spécial.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Cuello. — Estudio sobre les nuevos methodos para el diagnostico de las manchas de sangre (Santo Domingo, Rep. Dominicana, 1910).

Citron. — Über den Nachweis Kleinster Blutmengen in der Klinichen und forensichen Medicin (Berl. klin. Wochensch., nº 22, 1910).

Caffort. — Sur un nouveau procédé d'obtention des cristaux d'hémine (Thèse Montp., 1906).

Derrien et Sarda. — Procédé d'obtention et de montage simultanés de préparations permettant la caractérisation microspectroscopique des pigments transformables en hémochromogène et quelques applications de ce procédé à la médecine légale et à la biochimie comparée (Bulletin de la Société clinique de France, 4me série, 1911, t. IX, p. 804, — et *in* J. Ville et Derrien, Chimie biologique médicale, p. 156).

Dilling. — Atlas des Kristalformen und der Absorptionsbänder der Haemochromogene (Stuttgart, 1910).

Dascaloff. — Sur les nouveaux procédés de diagnostic des taches de sang (Thèse Montp., 1909).

Florence. — Détermination des taches de sang critiques (Arch. d'Anthrop. crim. et de méd. lég., novembre 1910).

Heine. — Vergleichende Untersuchungen über den forensichen Wert der Hämin und Haemochromogenkristalle (Viertelj. f. ger. Med. Bd. 43, 1912).

Kalmus. — Dàs Haemochromogen und seine Kristalle (Prague, 1910).

— Der gegenwärtige Stand des forensichen Blutnachweisses (Prague, 1910).

Koitchieff. — Les réactions colorées du sang. Leur valeur médico-légale (Thèse Montp., 1912).

Lattes. — Sul piridinemochromogeno preparato in mezzo acide (Giorn. Acad. di Med. Torino, 1912).

Lecha-Marzo. — Un nuevo procedimento para el diagnostico medico legal de las manchas de sangre (Revista de med. y cirurgia praticas, Madrid, 1906).

Leers. — Reduzierte Teichmann'sche Kristalle (Aerztl. Sachverts. Ztg., 1911, n° 1).

— Über die Schwierigkeit der Untersuchung vom rostigen Klingen an Blut (Arch. inern. med. leg., oct. 1910).

— Die forensische Blutuntersuchung (Berlin, 1910).

Locitte. — Über ein Reagenz um Nachweiss des Blutfarbstoffes und über die Darstellung der Haemochromogenkristalle (Viertelj. f. ger. Med., XXXIX, 1910).

Methling. — Zur Kentniss des forensischen Blutnachweisses auf Grund der Haemochromogenkristalle (Münch. med. Wochensch., 1910, n° 44).

Mirto. — Un metodo semplice par ottenere il reperto spettroscopio dello emocromogeno nelle macchie du sangue (Archiv. di Farmacologia sper. vol. XII, 1911).

Mita. — Zur Kentniss der Haemochromogen-Proben (Viertelj. f. ger. Med., XXIX, 1910).

Puppe et W. Kurbitz. — Das Haemochromogen und seine Kristalle. (Med. Klin., 1910, n° 38).

Rossi (Ugo). — Sui cristalli di iodo-cloro-bromo ematina (Atti della R. Academia dei Fisiocritici in Siena, n°s 5-6, 1910).

Rost-Franz-Heise. — Beitrage zur Photographie des Blutspectra (Springer, Berlin).

Sarda. — Résultats comparatifs des nouveaux procédés pour l'obtention des cristaux d'hémine (Extrait du Bull. de la Soc. de Méd. lég. de France, 1908).

— Le diagnostic des taches de sang par les cristaux d'hématine

(Rapp. au Congrès Intern. de Méd. lég., 1910. Montp., 1911).

Stockis. — L'expertise médico-légale des taches de sang (Congrès int. méd. lég., Brux., 1910 ; Arch. int. méd. lég., 1910).

Wibert. — Précis de méd. lég. (Paris, 1911).

Ziemke. — Weitere Untersuchungen über die forensiche Bedeutung der Spectroscopie un violetten Teil des Spectrums (Viertelj. f. ger. Med. Bd. 43, II, 1912).

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 23 juillet 1914
Pour le Recteur,
Le Doyen délégué,
BRÉMOND.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 23 juillet 1914.
Le Doyen,
MAIRET.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!

Planche I

PRÉPARATION DE CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE OBTENUE AVEC UNE MACÉRATION DE TACHES DE SANG D'HOMME DATANT DE CINQ SEMAINES.

(Baume du Canada dissous dans la pyridine à parties égales).

Planche II

PRÉPARATION DE CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE OBTENUE AVEC UNE MACÉRATION DE TACHES DE SANG D'HOMME DATANT DE CINQ SEMAINES.

(Baume du Canada dissous dans la pyridine à parties égales).

Planche III

PRÉPARATION DE CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE OBTENUE AVEC UNE MACÉRATION DE TACHES DE SANG D'HOMME DATANT D'UN AN

(Baume du Canada dissous dans la pyridine à parties égales).

Planche IV

PRÉPARATION DE CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE OBTENUE AVEC UNE MACÉRATION DE TACHES DE SANG DE COCHON DATANT DE TROIS ANS.

(Baumé du Canada dissous dans la pyridine à 1/3).

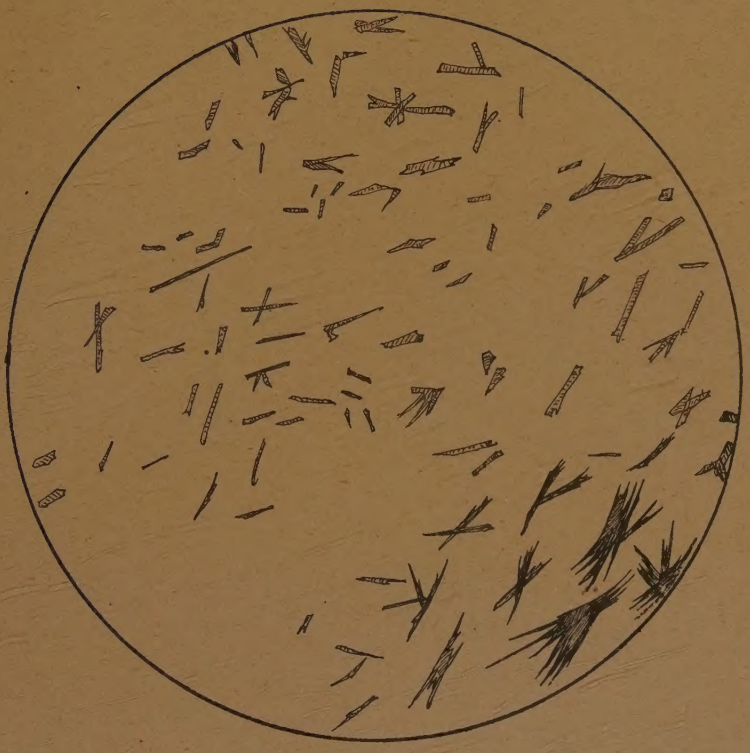


Planche V

PRÉPARATION DE CRISTAUX D'HÉMOCHROMOGÈNE OBTENUE AVEC UNE MACÉRATION DE TACHES DE SANG D'HOMME DATANT DE SIX ANS.

(Baume du Canada dissous dans la pyridine à 1/3).